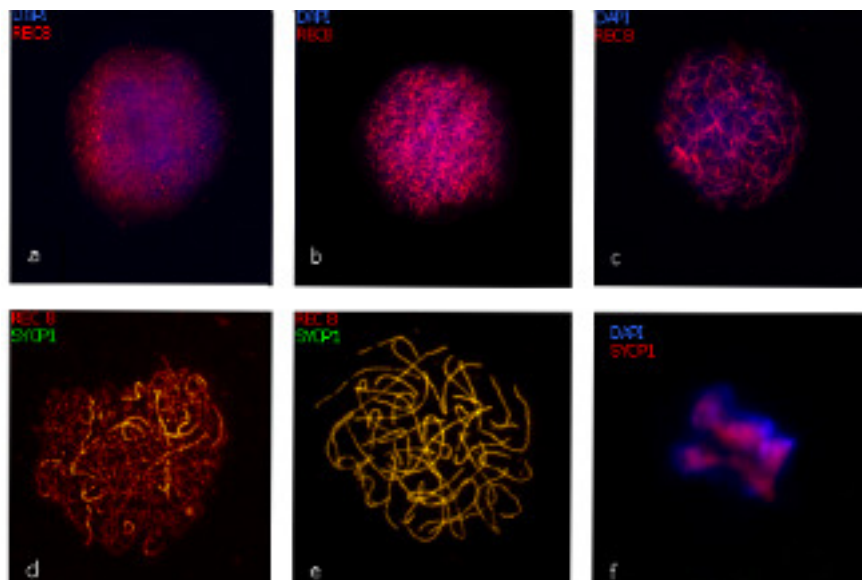


## Una nova tècnica permet el cultiu *in vitro* d'oòcits fetals humans

10/2010 - Medicina i Salut.

#Una de les dificultats que troba la reproducció assistida en humans és la manca de coneixement sobre els processos que regeixen la meiosi en els gàmetes femenins. Fins al moment, no hi ha hagut models *in vitro* que permetessin reproduir el que passa *in vivo*. Un grup del Departament de Biologia Cel·lular, de Fisiologia i Immunologia ha desenvolupat un treball que descriu per primera vegada una tècnica que també permet cultivar oòcits fetals humans, gràcies a un model que pot aplicar en l'avaluació d'agents tòxics, permetent valorar el seu efecte en les primeres etapes de la reproducció humana.



**Figura.-** Primeres etapes de la profase meiótica *in vitro* estudiada mitjançant immunofluorescència amb anticossos vs REC8 i SCYP1: preleptotè (a), leptotè (b), zigotè primerenc (c), zigotè tardà (d), paquíotè (e) i cèl·lula degenerada.

Malgrat els grans avenços científics i tècnics que han permès el desenvolupament de la reproducció assistida, la reproducció humana i en especial la formació dels gàmetes femenins continua sent un camp molt poc explorat. Factors tècnics i ètics són sens dubte un dels majors limitants en l'estudi de la meiosi femenina humana. És important assenyalar que una part molt important del procés reproductiu en la dona succeeix durant la seva etapa fetal: és en aquest període que es configuren els oòcits que seran fecundats en la seva vida adulta. La importància d'aquest procés és que qualsevol dany/problema que succeeixi durant aquesta etapa es veurà reflectit en el procés reproductiu. Fins al moment actual, no han existit models *in vitro* que permetessin avaluar com els cromosomes progressen a través de la profase meiótica, de manera que el model dissenyat pel nostre grup permet per primera vegada aconseguir que oòcits fetals humans progressin en aquestes diferents etapes, i que aquesta progressió "reproduïxi" de manera estandaritzada i fiable el que succeeix *in vivo*.

Es van analitzar la progressió dels oòcits mitjançant una sèrie de proteïnes que s'encarreguen de l'aparellament i sinapsi (proteïnes REC8, SYCP1 i SYCP3) així com de la recombinació de material genètic entre els cromosomes (proteïna MLH1) (imatge 1). L'estudi d'aquestes proteïnes es va realitzar mitjançant microscòpia acoblada a fluorescència. Per determinar el millor mètode d'obtenció d'oòcits a partir d'ovaris fetals, es van emprar 4 diferents tècniques, 2 mecàniques (punció de l'ovari o fragmentació ovàrica) i 2 enzimàtiques (tractament de l'ovari amb tripsina o col·lagenasa+hialuronidasa). A més d'avaluar quin mètode de disgregació era el més adequat es va avaluar també l'eficàcia d'aplicar un factor de creixement de cèl·lules mare al medi de cultiu. Els oòcits van ser avaluats en fresc (T0), als 7, als 14 i als 21 dies de cultiu (T7, T14 i T21).

Un cop cultivats i processats es va observar que aquells oòcits disgregats amb mètodes mecànics es mantenien en un nombre més gran que els oòcits disgregats amb mètodes enzimàtics en tots els temps de cultiu. Al mateix temps es va observar que el nombre de cèl·lules degenerades (oòcits no viables) va ser menor entre els oòcits disgregats mecànicament. D'altra banda, és important assenyalar que en els cultius en què es va emprar el suplement de factor de creixement de cèl·lules mare els valors d'oòcits obtinguts van ser molt més grans que en aquells que van ser cultivats únicament amb medi de cultiu estàndard. El factor de creixement va disminuir més el nombre de cèl·lules degenerades independentment del mètode de disgregació emprat.

A més d'aquests importants resultats metodològics, es va observar que el procés d'aparellament i sinapsi es desenvolupava de manera equivalent als processos observats *in vivo* i que no es van presentar patrons anormals. En el cas de la recombinació, aquesta només es va poder observar en els oòcits obtinguts amb mètodes de disgregació mecànica i que van ser cultivats amb factor de creixement de cèl·lules mare. La recombinació entre els cromosomes homòlegs va mimetitzar el descrit *in vivo*.

El nostre treball descriu per primera vegada una tècnica que permet cultivar òcits fetals humans i que aquests emulin els patrons descrits tant com per aparellament i sinapsi com recombinació en *in vivo*. Els resultats obtinguts són reproduïbles, fiables i estandarditzats de manera que aquest model pot ser aplicat en l'avaluació d'agents tòxics i permet valorar el seu efecte en les primeres etapes de la reproducció humana.

Montserrat Garcia Caldés

Departament de Biologia Cel·lular, de Fisiologia i d'Immunologia

"A new culture technique that allows *in vitro* meiotic prophase development of fetal human oocytes". M.A. Brieño-Enríquez, P. Robles, R. García-Cruz, I. Roig, L. Cabero, F. Martínez, M. Garcia Caldés. *Human Reproduction*, Vol.25, No.1 pp. 74#84, 2010.